RESOLUTION OIV-OENO 496-2013

MONOGRAPHIE SUR LES AUTOLYSATS DE LEVURES

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE

Vu l'article 2 paragraphe 2 iv de l'accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation internationale de la vigne et du vin,

CONSIDERANT les travaux des groupes d'experts « Spécifications des produits œnologiques » et « Microbiologie »

DECIDE de compléter le « Codex œnologique international » par la monographie suivante :

AUTOLYSATS DE LEVURES

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Les autolysats de levures sont utilisés en tant que nutriments pour la réhydratation des levures sèches actives destinées à la fermentation alcoolique et également en tant que nutriments au cours de la fermentation alcoolique. Ils sont issus de biomasse de levures du genre *Saccharomyces spp*. Ils sont obtenus à partir d'une biomasse de levures, à la suite d'une autolyse éventuellement combinée à des traitements thermiques et/ou à des modifications de pH. L'autolyse se définie comme l'autodigestion des protéines et d'autres constituants cellulaires par les enzymes contenues dans les cellules de levures.

Les techniques de production du microorganisme sont celles utilisées conventionnellement pour les biomasses de levures. Il n'y a aucun ajout d'antibiotique dans le procédé ni de composés autres que ceux nécessaires à la croissance de la levure. Si les autolysats proviennent de levures génétiquement modifiées, celles-ci doivent avoir été soumises à l'autorisation préalable des autorités compétentes.

2. ETIQUETAGE

Doivent figurer sur l'étiquette:
- 1 Le nom du genre et de l'espèce de l'autolysat de levure
- 2 La teneur en Azote organique
- 3 La teneur en acides aminés
- 4 Les additifs éventuels
- 5 Le mode d'emploi
- 6 Le numéro du lot ainsi que la date limite d'utilisation et les conditions de conservation dans des

Exemplaire certifié conforme
Bucarest, le 7 juin 2013
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2013

conditions définies de température, d'humidité et d'aération,
- 7 Si nécessaire l'indication que les autolysats ont été obtenus à partir de levures ayant subit une modification génétique ainsi que le caractère modifié si cela est le cas.

3. CARACTÈRES

Elles se présentent sous forme de poudre, flocons ou granules, de couleur jaune claire à brune avec une odeur caractéristique de levure. Ils peuvent être également proposés sous forme liquide de couleur jaune ocre à brune.

Les autolysats de levures sont très solubles dans l'eau. La partie soluble est inférieure à 80 % de la matière sèche. La partie soluble de la matière sèche présente dans l'autolysat sous forme liquide doit également être inférieure à 80 %.

4. LIMITES ET METHODES D'ESSAIS

4.1 – Azote

4.1.1 La teneur en azote total, exprimée en élément N, doit être inférieure à 12% de la matière sèche selon la méthode d'analyse décrite au Chapitre II du Codex Oenologique International.

4.1.2 La teneur en azote ammoniacal, exprimée en élément N, doit être inférieure à 0,5 % de la matière sèche. Elle est déterminée par la méthode suivante.
Placer 1 g de matière sèche dans 100 ml de KCL 0,5 M, agiter pendant 20 à 30 mn, introduire les 100 ml dans l'appareil à entraînement par la vapeur d'eau décrit au Chapitre II du Codex Œnologique International pour le dosage de l'azote total, 50 ml d'hydroxyde de sodium à 30 % (R), distiller en recueillant 250 ml dans une fiole conique contenant 5 ml d'acide borique à 4 % (R), 10 ml d'eau et 2 à 3 gouttes d'indicateur mixte au rouge de méthyle et bleu de méthylène (R), titrer le distillat par l'acide chlorhydrique 0,1 M jusqu'au virage au violet rose de l'indicateur.
1 ml de solution d'acide chlorhydrique correspond à 1,4 mg d'azote N.
Soit *n* le nombre de ml versé : 100 g d'autolysats de levures contiennent 0,14 n g d'azote ammoniacal exprimé en élément N.

4.1.3 L'azote organique correspond à la différence azote total – azote ammoniacal.

4.1.4 La teneur en acides aminés, en équivalent glycine, doit être comprise entre 10 % et 20 % de la matière sèche, selon la méthode au DNFB décrite en annexe, soit entre 1,9 % et 3,7 % de la matière sèche, exprimée en élément N.

4.2 - Humidité

Mesurée par la perte de poids de 5 g de produit, séché à 105 °C jusqu'à poids constant (environ 3 heures).
L'humidité maximale pour les formes solides doit être inférieure à 7 %.

Les limites en métaux lourds se rapportent à la matière sèche pour les formes sèches ou la forme liquide.

Exemplaire certifié conforme
Bucarest, le 7 juin 2013
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2013

4.3 - Plomb
Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
La teneur doit être inférieure à 2 mg/kg de matière sèche.

4.4 - Mercure
Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.5 - Arsenic
Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
La teneur doit être inférieure 3 mg/kg de matière sèche.

4.6 - Cadmium
Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.7 - Levures revivifiables
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
Le nombre doit être inférieur ou égale à 10^2 UFC/g ou ml pour la forme liquide

4.8 - Moisissures
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
Le nombre doit être inférieur à 10^3 UFC/g ou ml pour la forme liquide

4.9 - Bactéries lactiques
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International
Le nombre doit être inférieur à 10^3 UFC/g ou ml pour la forme liquide.

4.10 - Bactéries acétiques
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
Le nombre doit être inférieur à 10^3 UFC/g ou ml pour la forme liquide.

4.11 - Salmonelles
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 25 g ou ml pour la forme liquide.

4.12 - Escherichia coli
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g ou ml pour la forme liquide.

4.13 - Staphylocoques
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.

Exemplaire certifié conforme
Bucarest, le 7 juin 2013
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2013

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g ou ml pour la forme liquide.

4.14 - Coliformes
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International.
Le nombre doit être inférieur à 10^2 UFC/g ou ml pour la forme liquide.

5. ADDITIFS
Ils doivent être conformes aux réglementations en vigueur.

6. CONSERVATION
Les autolysats de levure doivent toujours être conservées à l'abri de l'air dans des sachets scellés . Stocker dans un endroit frais et sec.
Dans tous les cas, se référer aux prescriptions du fabricant.

Exemplaire certifié conforme
Bucarest, le 7 juin 2013
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2013

Annexe 1

Méthode au Dinitrofluorobenzène

1. Introduction
Cette méthode permet de doser rapidement l'azote aminé dans une solution biologique par rapport à une gamme étalon réalisée avec une solution de glycine.

2. Domaine d'application
Produits œnologiques d'origine végétale ou animale

3. Définition
Le Dinitrofluorobenzène ou DNFB réagit avec les fonctions NH_2 libres contenues dans les acides aminés pour donner un composé de couleur jaune vif dosé par colorimétrie à 420 nm. La réaction s'effectue à un pH > 9,3.

4. Réactifs et produits
Réactifs :
- Borax ou Tétraborate de sodium,
- Dinitrofluorobenzène,
- Acide chlorhydrique 10 M,
- Glycine.

5. Appareillage
- tubes à hémolyse,
- micropipettes,
- Spectrophotomètre visible,
- Bain d'eau à 60 °C.

6. Echantillonnage

- Préparer une solution de tétraborate de sodium à 5% dans de l'eau pure,
- Préparer une solution au DNFB : introduire 130 µl de DNFB dans 10 ml d'éthanol à 95 % vol,
- Préparer une solution d'acide chlorhydrique 2M,
- Réaliser une gamme étalon à partir d'une solution mère de glycine à 2 g/l (M=75,07 g) par ex 0,50 mg/l, 100 mg/l, 200 mg/l, 500 mg/l,
- Préparer une suspension à 2 g/l du produit à doser.

7. Mode opératoire

- Dans un tube à hémolyse introduire :
  - 380 µl de Borax à 5%,
  - 20 µl de l'échantillon à doser,
  - 20 µl de solution au DNFB,
  - procéder à l'identique pour la gamme de glycine,
  - Agiter et placer au bain d'eau à 60 °C pendant 30 min,
  - Ajouter 3 ml de HCl 2M,
  - Agiter et lire l'absorbance spécifique à 420 nm pour l'échantillon,
  - Réaliser une droite étalon avec la gamme de glycine.

Exemplaire certifié conforme
Bucarest, le 7 juin 2013
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2013

8. Résultats

Reporter la valeur de l'absorbance à 420 nm de l'échantillon sur la droite étalon.

Les résultats sont exprimés en mg/l de glycine.

Exemplaire certifié conforme
Bucarest, le 7 juin 2013
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2013